

(WO/2001/028624) DEVICE AND ELECTRODE FOR ELECTROPORATION**Latest bibliographic data on file with the International Bureau**

Pub. No.: WO/2001/028624 **International Application No.:** PCT/JP2000/007188
Publication Date: 26.04.2001 **International Filing Date:** 17.10.2000
Chapter 2 Demand Filed: 02.05.2001

IPC: A61N 1/30 (2006.01)

Applicants: HISAMITSU PHARMACEUTICAL CO., INC. [JP/JP]; 408, Tashirodaikanmachi Tosu-shi, Saga 841-0017 (JP) (*All Except US*).
MORI, Kenji [JP/JP]; Tsukuba Laboratory of Hisamitsu Pharmaceutical Co., Inc. 25-11, Kannondai 1-chome Tsukuba-shi, Ibaraki 305-0856 (JP) (*US Only*).
KUBO, Hiroyuki [JP/JP]; Tsukuba Laboratory of Hisamitsu Pharmaceutical Co., Inc. 25-11, Kannondai 1-chome Tsukuba-shi, Ibaraki 305-0856 (JP) (*US Only*).
SUGIBAYASHI, Kenji [JP/JP]; 14-46, Araiyuku-cho 1-chome Kawagoe-shi, Saitama 350-1124 (JP) (*US Only*).

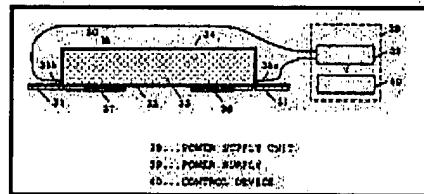
Inventors: MORI, Kenji; Tsukuba Laboratory of Hisamitsu Pharmaceutical Co., Inc. 25-11, Kannondai 1-chome Tsukuba-shi, Ibaraki 305-0856 (JP).
KUBO, Hiroyuki; Tsukuba Laboratory of Hisamitsu Pharmaceutical Co., Inc. 25-11, Kannondai 1-chome Tsukuba-shi, Ibaraki 305-0856 (JP).
SUGIBAYASHI, Kenji; 14-46, Araiyuku-cho 1-chome Kawagoe-shi, Saitama 350-1124 (JP).

Agent: TANAKA, Kiyoshi; Yebisu Garden Terrace Nibankan 709 20-2, Yebisu 4-chome Shibuya-ku, Tokyo 150-0013 (JP).

Priority Data: 11/331755 18.10.1999 JP

Title: DEVICE AND ELECTRODE FOR ELECTROPORATION

Abstract: A device for electroporation comprises an anode and a cathode to apply electroporation to a skin or mucous membrane. The device comprises a formulation (30) provided with an anode (36) and a cathode (37), and a power supply unit (38) to apply a voltage between the anode (36) and the cathode (37). The distance or the voltage between the anode (36) and the cathode (37) is adjusted so that a single application of electroporation may cause the maximum field intensity of approximately 790 to 4000 V/cm over the applied skin and/or the average field intensity of approximately 7 to 730 V/cm over the applied area.



Designated CA, CN, JP, KR, US.

States: European Patent Office (EPO) (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE).

Publication Language:

Japanese (JA)

Filing Language:

Japanese (JA)

(12)特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19)世界知的所有権機関
国際事務局



(43)国際公開日
2001年4月26日 (26.04.2001)

PCT

(10)国際公開番号
WO 01/28624 A1

(51)国際特許分類7:
A61N 1/30

(21)国際出願番号:
PCT/JP00/07188

(22)国際出願日:
2000年10月17日 (17.10.2000)

(25)国際出願の言語:
日本語

(26)国際公開の言語:
日本語

(30)優先権データ:
特願平11/331755
1999年10月18日 (18.10.1999) JP

(71)出願人(米国を除く全ての指定国について): 久光製薬株式会社 (HISAMITSU PHARMACEUTICAL CO., INC.) [JP/JP]; 〒841-0017 佐賀県鳥栖市田代大官町408番地 Saga (JP).

(72)発明者; および
(75)発明者/出願人(米国についてのみ): 森 健二 (MORI, Kenji) [JP/JP]. 久保浩之 (KUBO, Hiroyuki) [JP/JP]; 〒305-0856 茨城県つくば市観音台1丁目25番11号 久光製薬株式会社 筑波研究所内 Ibaraki (JP). 杉林堅次 (SUGIBAYASHI, Kenji) [JP/JP]; 〒350-1124 埼玉県川越市新宿町1丁目14番46号 Saitama (JP).

(74)代理人: 田中 清 外 (TANAKA, Kiyoshi et al.); 〒150-0013 東京都渋谷区恵比寿4丁目20番2号 恵比寿ガーデンテラス武番館 709 Tokyo (JP).

(81)指定国(国内): CA, CN, JP, KR, US.

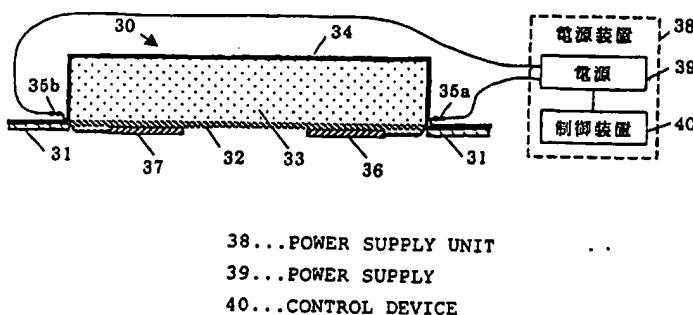
(84)指定国(広域): ヨーロッパ特許 (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE).

添付公開書類:
— 國際調査報告書

2文字コード及び他の略語については、定期発行される各PCTガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイドスノート」を参照。

(54)Title: DEVICE AND ELECTRODE FOR ELECTROPORATION

(54)発明の名称: エレクトロポレーション用装置及び電極



and/or the average field intensity of approximately 7 to 730 V/cm over the applied area.

(57)Abstract: A device for electroporation comprises an anode and a cathode to apply electroporation to a skin or mucous membrane. The device comprises a formulation (30) provided with an anode (36) and a cathode (37), and a power supply unit (38) to apply a voltage between the anode (36) and the cathode (37). The distance or the voltage between the anode (36) and the cathode (37) is adjusted so that a single application of electroporation may cause the maximum field intensity of approximately 790 to 4000 V/cm over the applied skin

WO 01/28624 A1

(続葉有)



(57) 要約:

皮膚または粘膜にエレクトロポレーションを適用するための陽極および陰極を有するエレクトロポレーション用装置及び電極である。本装置は、陽極（36）と陰極（37）が配置された製剤（30）、及び、陽極（36）と陰極（37）間に電圧を負荷する電源装置（38）を備え、陽極（36）と陰極（37）間の距離および負荷電圧の少なくとも一方を調節することにより、エレクトロポレーションの1回の適用で、皮膚等の適用面に生じる電場強度の最大値が約790V/cm～約4000V/cm、及び／または電圧負荷面積平均電場強度が約7V/cm～約730V/cmとなるように設定する。

明細書

エレクトロポレーション用装置及び電極

5 技術分野

本発明は、エレクトロポレーションを利用して薬物（生理活性物質）を生体内へ送達するためのエレクトロポレーション用装置及び電極に関するものである。

10 背景技術

エレクトロポレーションは、遺伝子導入に用いられていた方法で、細胞に瞬時に高電圧を負荷し細胞内へDNA等を導入するために利用されている。

近年、この技術は経皮または経粘膜からの薬物送達に応用されている
15 (特表平3-502416号公報、Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 90, 10504-10508, 1993)。これは、エレクトロポレーションの正負の両電極間に電圧を負荷し、皮膚や粘膜に孔を生じさせることにより、新たな可逆的ルートを形成し、物質の膜透過を増大させるものである。Edwardsら (Journal of Controlled Release, 34, 211, 1995) や、
20 A. Jadoulら (Journal of Controlled Release, 54, 265, 1998) や、Rita Vanberver (Journal of Controlled Release, 50, 225, 1998, Journal of Controlled Release, 54, 243, 1998, Pharmaceutical Research, 11, 1657, 1994) も同様に皮膚に電圧を負

荷し、エレクトロポレーションの効果を得ている。また、Hofmanら (Bioelectrochemistry and Bioengineering, 38, 209, 1995) は皮膚に挟み込むような電極を適用し、エレクトロポレーションにより担体を吸収させることに成功して
5 いる。

これらの従来技術では、実験的には薬物の皮膚透過を促進させる効果を得ているものの、電場を考慮していないか、考慮していても単に負荷した電圧を陽極と陰極の電極間の距離で除算しているに過ぎない。Hofmanらの例においても、電場解析を行っているものの、一次的に負荷した電圧値を電極直下の皮膚角質層の厚さで除して電場を求めているに過ぎず、電極直下の皮膚のみ（皮膚角質層厚さ方向）にかかる電場強度は考慮されているが、電極と接していない部分の電場強度は考慮されていない。

そのため、このような方法では、皮膚局所に強い電場が生じ皮膚を損傷してしまう可能性があったり、一方では電場の形成がされない等、電場にはらつきが生じるためエレクトロポレーションを有効に利用できず、皮膚への目的物の吸収が十分でないという問題が生じていた。

従って本発明は、より安全に、より効果的に薬剤の経皮吸収を可能とするエレクトロポレーション用装置及び電極を提供することを目的とする。

発明の開示

上記課題を解決するために、本発明者らは、銳意研究した結果、エレクトロポレーション装置を皮膚または粘膜の導入対象物に適用する場合、
25 皮膚等に直接または間接的に接する陽、陰の電極の位置関係、形状、面積等のパラメーターが皮膚等に形成される電場分布に対して大きく影響

することに着目し、体内に吸収させる薬物の経皮吸収を最適化するよう
に電場強度等を設定することが有効であることを見出した。

そこで本発明は、エレクトロポレーションの皮膚または粘膜の導入対
象物への適用において、その適用面にエレクトロポーションを生じさせ、
5 面方向（二次元的）の電場分布より求められる最大電場値（電場強度の
最大値）及び／または電圧負荷面積平均電場強度が所定範囲に入るように
規定する。

すなわち本発明は、皮膚または粘膜にエレクトロポレーションを適用
するに際し電場分布及び最大電場値を計算し、皮膚または粘膜の適用面
10 に生ずる電場強度の最大値及び／または電圧負荷面積平均電場強度が特
定の値に設定されるようにし、これにより、より皮膚透過性に優れたエ
レクトロポレーション用装置及び電極を実現するものである。

より具体的には、本発明は、エレクトロポレーションの1回の適用毎
に、適用面に生じる電場強度の最大値が、約790V/cm～約400
15 0V/cmとなるように設定されるエレクトロポレーション用装置であ
る。

また、本発明は、エレクトロポレーションの1回の適用毎に、適用面
に生じる電圧負荷面積平均電場強度が、約7V/cm～約730V/cm
mとなるように設定されるエレクトロポレーション用装置である。

20 さらに、本発明は、陽極と陰極の電極間に生じる電場強度がほぼ均一
となるように構成されるエレクトロポレーション用装置である。

また、本発明は、陽極と陰極間の距離および負荷電圧の少なくとも一
方を調節することにより、エレクトロポレーションの1回の適用で、適用
面に生じる電場強度の最大値が約790V/cm～約4000V/cm
25 m、及び／または電圧負荷面積平均電場強度が約7V/cm～約730
V/cmとなるように設定される。ここで、陽極および陰極のうち一方

又は両方を適用面から離してもよいし、両方を適用面に接しさせてもよい。

さらに、本発明は、陽極および陰極の電極構造が同じ形状を有し、かつ陽極と陰極間の距離がほぼ一定であるエレクトロポレーション用電極である。ここで、陽極および陰極の電極構造は、それぞれ板型または同心円状のリング型とすることが好ましい。また、陽極と陰極の対向面が互いに凹凸形状を有する構造とすることが好ましい。このような電極が、エレクトロポレーション用装置に適用される。

10 図面の簡単な説明

図1は、エレクトロポレーション用電極を負荷したときに生じる等電位線を示す図である。

図2は、コンピュータソフトウェアにより解析した電場分布を示す図である。

15 図3は、エレクトロポレーション用装置の一例を示す図である。

図4は、リング型ー針型の電極を皮膚に適用した例を示す斜視図である。

図5は、リング型ー針型の電極を皮膚に適用した例を示す平面図である。

20 図6は、板型ー板型の電極を皮膚に適用した例を示す斜視図である。

図7は、板型ー板型の電極を皮膚に適用した例を示す平面図である。

図8は、針型ー針型の電極を皮膚に適用した例を示す斜視図である。

図9は、針型ー針型の電極を皮膚に適用した例を示す平面図である。

25 図10は、電場強度の最大値と安息香酸ナトリウムの最大透過速度の関係を示すグラフである。

図11は、電圧負荷面積平均電場強度と安息香酸ナトリウムの最大透

過速度の関係を示すグラフである。

図12は、縦型透過実験拡散セルを示す図である。

図13は、電圧負荷面積平均電場強度とジクロフェナクナトリウムの7時間目までの累積透過量の関係を示すグラフである。

5 図14は、コンピュータソフトウェアにより解析したリング型-針型電極の場合の電場分布を示す図である。

図15は、コンピュータソフトウェアにより解析した板型-板型電極の場合の電場分布を示す図である。

図16は、コンピュータソフトウェアにより解析した針型-針型電極10の場合の電場分布を示す図である。

図17は、電場解析により設計した電極例を示す図である。

図18は、電場解析により設計した電極例を示す図である。

図19は、電場解析により設計した電極例を示す図である。

図20は、インピトロ透過実験装置および電極の設置状況を示す図で15ある。

図21は、三次元電場分布を示す図である。

図22は、図21のXY最下面の二次元電場分布を示す図である。

発明を実施するための最良の形態

20 本発明について、皮膚にエレクトロポレーションを適用したときの現象を例にとり、図を用いて説明する。ただし、以下は例示であって、これに限定されるものではない。

図1は、エレクトロポレーション用電極を負荷したときに生じる等電位線を示す図である。図1において、11は陽極適用部分、12は陰極適用部分、13及び14は等電位線、15は電極が適用された皮膚である。陽極適用部分11と陰極適用部分12間に電圧を負荷した場合、図

1 に示すように円状の等電位線 13、14、あるいは図示しない梢円状若しくは卵型等の等電位線が得られる。等電位線 13、14 の 1 つの円に着目したとき、その円周上では、電位はどこの位置でも同じである。

図では陽極側および陰極側にそれぞれ 4 つの円しか描かれていないが、

5 実際は無数の等電位線が連続的に皮膚上に存在する。円が大きくなるほど電圧の絶対値は低くなり、逆に小さいほど、すなわち電極に近いほど電圧の絶対値は高くなる。ここで、2 点の電位差を、その 2 点間の距離で除算した値が電場である。このように皮膚上の他の点でも電場を求め、電場分布を知ることができる。

10 かかる電場分布は市販されているコンピュータソフトウェアによる解析でも知ることができる。コンピュータ解析により求めた電場解析の例を図 2 に示す。これは、直径 1 mm の針状電極を陽極および陰極として用い、電極間の距離を 10 mm とし、300 V の電圧を負荷したときの電場分布の例である。図から明らかなように面方向、すなわち二次元的に電場が分布していることがわかる。

15 電場強度は、孔の形成能と相関するので、電場強度の強い部分の皮膚は物質透過性が高く、弱い部分は透過性が低い。したがって、どれくらいの範囲にどれくらいの電場がかかり、全体としてどのような分布をしているかを知ることは、電極および装置の構造を決定する上で非常に重要である。

20 しかし、従来のように、単に何ボルト負荷したとか、負荷した電圧を電極間距離で除算し、一次元的に求めた値を皮膚全体の平均電場値としたのでは、上記のような二次元的な電場分布を全く考慮していないことになる。例えば、電圧 300 V を陽陰電極間距離 1 cm で負荷した場合と電圧 600 V を陽陰電極間距離 2 cm で負荷した場合とでは、どちらも一次元的に求めた電場強度は 300 V/cm として表されるが、実際

は電極間距離も電圧も異なるため、皮膚上の二次元的な電場分布は全く異なり、当然薬物などの皮膚透過性も異なる。

このように、様々な電極について二次元的な電場分布を計算した上で、電極構造やエレクトロポレーション用装置（電源装置を含む）の出力設定を決定することは非常に重要なことである。

次に、本発明者らは、適用面に生じる最大電場値（電場強度の最大値）が約790V/cm～約4000V/cmであれば、効果的に目的物質を皮膚または粘膜を介して吸収できることを見出した。

また、電場分布から、適用面に生じる電圧負荷面積平均電場強度が約7V/cm～約730V/cmであれば、効果的に目的物質を皮膚または粘膜を介して吸収できることを見出した。

ここで、電圧負荷面積平均電場強度とは最大電場値の1/16以上の電場がかかる部分の平均電場値であり、電圧負荷面積平均電場強度の求め方の例示を以下に示す。図2は市販のコンピュータソフトウェア（ボルトST、株式会社フォトン製）により電場分布を測定したものである。

測定された電場強度は、最大値から0まで、16段階に分類（レベル分け）される。図2では、最大値が92356V/mであるので92356/16で5772V/m毎にレベル分けされている。例えば、レベル1として92356～86584V/mとなり、以下レベル2からレベル14までレベル分けされ、レベル15が11545～5772V/m、レベル16が5772～0V/mとなる。各レベルの中間値をそのレベルの電場値とする。次に、電場が負荷されている面積に対する各レベルの占める面積の割合（面積比）を求める。図2の例では、各レベルの面積比はレベル1～15まで、各々0.000382831、0.0004242、0.000718383、0.001512938、0.002116709、0.003256715、0.004221758、0.005088981、0.00679246、0.013719534、0.020777283、0.044858206、0.127849139、

0.185078762、0.583202102となる。（ここで、レベル16は最大値の1／16以下の電場であること、0V/mを含んでいることにより計算から除外する。）この各レベルの面積比とレベル値を乗算し、その値を合計したものが電圧負荷面積平均電場強度である。ただし、上記の例はコンピュータを用いて行ったが、この方法に限定されることなく電場の分布、電場強度の最大値が解析されればよく、それらの値より求められたものが電圧負荷面積平均電場強度である。

本発明に係るエレクトロポーション用装置は、例えば図3に示すように構成される。即ち、本装置は、少なくとも陽極と陰極からなる一対またはそれ以上の対をなす電極及び／または薬物等を含む製剤30、並びに電圧を供給する電源装置38等から構成される。

製剤30は、皮膚や粘膜に接触させるための粘着剤を含む粘着層31、薬物を含む投与組成物層33、バッキングフィルム34、陽極36、陰極37、陽極36および陰極37と電源装置38とをそれぞれ接続するための電極端子35a、35b、および電極を積層した放出膜32を備える。また、電源装置38は、電圧を出力する電源39および電源の出力を制御する制御装置40を備える。

本発明のエレクトロポレーション用電極の材質は特に限定されないが、カーボン、白金、金、チタン、アルミニウム、ニッケル、鉄、銀、塩化銀、銅、塩化銅、およびこれらの合金が用いられるが、カーボン、鉄、塩化銀が印刷技術による成型が容易であるので好ましい。

また、これらの電極を薬物を含む製剤に組み込む際には、図3に示したように電極が直接皮膚または粘膜と接触することができるよう配置してもよいし、陽極と陰極のどちらか一方または両方が皮膚や粘膜に直接接接触せず、その近傍に配置してもよい。

ここで、放出膜の材料としては特に制限はないが、投与される薬物（生

理活性物質) やその組成物の組成により適宜選択することが望ましい。

例えば、水溶性の組成物や薬物の場合には、その組成物の膜透過が律速とならないような親水性の膜を選択することが好ましく、逆に、脂溶性の場合には、疎水性の膜を選択することが好ましい。さらに、薬物等の
5 投与組成物の透過を妨げないような細孔をもつ多孔質膜を用いることが好ましく、その孔径は、好ましくは 0.01 ~ 10 μm、さらに好ましくは 0.1 ~ 5 μm の範囲が薬物の保持性や透過性に適する。また、膜の材質としては、特に限定されないが、ナイロン、ポリフッ化ビニリデン、セルロース、ニトロセルロース、ポリカーボネイト、ポリスルフォン、ポリエチレン、不織布、ガーゼ、織布、紙、脱脂綿、連続発泡する
10 ポリエチレン、ポリプロピレン、酢酸ビニル、ポリオレフィンフォーム、ポリアミドフォーム、ポリウレタン等の多孔質膜及び発砲体などや、これら材質に化学修飾や処理を加えたものが挙げられる。

電極を上記放出膜上に積層する方法としては、粘着、印刷、蒸着、メッキ等が挙げられる。この中で、印刷はそのパターン、形状をスクリーン印刷等により容易にコントロールすることができるので特に好ましく、粘着による積層方法も簡便な方法であるので好ましく用いられる。

このような方法で積層する電極は、膜上に少なくとも陽極と陰極の一対の電極をもつように構成されることが好ましい。さらに、両電極間の
20 距離は、先に記載した二次元的電場を考慮し決定される。

バッキングフィルムとしては、加工性、柔軟性かつ適度な保形性、及び水保持性に優れた材料であれば特に限定されないが、例えば、塩化ビニリデン、塩化ビニル等の重合体である塩素含有樹脂、オレフィン系、エステル系、スチレン系、アクリル系、アミド系、オキシメチレン系、
25 フェニレンスルフィド系、アミドイミド系、アクリロニトリル系、エーテルケトン、エーテルスルホン、スルホンエーテルイミド、ブタジエン、

イソプレン等の高分子重合体やこれらの共重合体のうち、1種または2種以上の混合物が用いられ、そのような材料をフィルム状に加工し成型したものが使用される。また、厚さは特に限定はされないが、5～250μmの厚みをもつと保形性、柔軟性に優れているので好ましい。

5 投与組成物には、主薬の他に、吸収性、安全性を考慮し、電解質、吸収促進剤、安定化剤、pH調整剤、増粘剤、界面活性剤、乳化剤、イオン交換樹脂、イオン交換膜、不織布等を含んでも良い。

また、バッキングフィルムと放出膜を積層する方法としては、ヒートシール等によりシーリングすることが望ましい。

10 本発明に用いられる薬物は特に限定されないが、モルヒネ、フェンタニル、ペチジン、コデイン、ブブレノルフィン、ブトルファノール、エプタゾシン、ペンタゾシンなどの中枢性鎮痛薬、インスリン、カルシトニン、カルシトニン関連遺伝子ペプチド、バソプレシン、デスマプレシン、プロチレリン（TRH）、副腎皮質刺激ホルモン（ACTH）、黄
15 体形性ホルモン放出因子（LH-RH）、成長ホルモン放出ホルモン（G
RH）、神経成長因子（NGF）及びその他の放出因子、アンジオテンシン、副甲状腺ホルモン（PTH）、甲状腺刺激ホルモン（TSH、サイロトロビン）、卵胞刺激ホルモン（FSH）、黄体ホルモン（LH）、
20 プロラクチン、血清性性腺刺激ホルモン、胎盤性性腺刺激ホルモン（H
CG）、下垂体性性腺刺激ホルモン（HMG）、成長ホルモン、ソマトスタチン、ソマトメジン、グルカゴン、オキシトシン、ガストリン、セクレチン、エンドルフィン、エンケファリン、エンドセリン、コレストキニン、ニュウロテンシン、インターフェロン、インターロイキン、トランスフェリン、エリスロポエチン（EPO）、スーパーオキサイドデ
25 スムターゼ（SOD）、顆粒球刺激因子（G-CSF）、腸管血管拡張ペプチド（VIP）、ムラミルジペプチド、ウロガストロン、ヒト心房

性利尿ペプチド（h-ANP）等のペプチド類、カルマバゼピン、クロルプロマジン、ジアゼパム、ニトラゼパム等の精神安定薬、プレオマイシン、アドレアマイシン、5-フルオロウラシル、マイトマイシン等の抗悪性腫瘍薬、ジキタリス、ジゴキシン、ジギトキシン等の強心薬、エストラジオール、テストステロン等の性ホルモン、レセルピン、クロニジン等の血圧降下剤等が挙げられる。さらに、アンチセンスDNA、三重鎖形成性オリゴヌクレオチドに代表されるオリゴヌクレオチドも用い
5 きくことができる。

エレクトロポレーション用装置の電源装置より供給される電圧は、電極の構造、すなわち陽極および陰極の位置関係、形状、面積等のパラメーターにより影響される電場分布を考慮して規定することができる。また、通電パターンは指数対数形波か矩形波等が挙げられるが、これらに限定されるものではない。
10

<実施例>

15 以下に、実施例を挙げて本発明を説明するが、本発明はこれに限定されるものではない。

<実施例 1>（最大電場値および電圧負荷面積平均電場強度の最適値の決定）

（薬物透過実験）

20 図12は、縦型透過実験拡散セルを示す図である。体重220g～250gのヘアレスラットをペントバルビタールで麻酔した後、腹部の皮膚129を摘出し縦型透過実験拡散セルにセットした。次いで、太さ1mmの銀の針状電極123を陽極および陰極として用い、その電極間距離を1、5、10または15mmとし、電極間に300Vを負荷した。

25 また、同様に電極間距離を7.5mmとして450Vまたは600Vの電圧を負荷した。電圧は1回／分で10回負荷し、その後50分間休止

し、再び1回／分で10回負荷し、50分間休止するというスケジュールを8時間に渡り繰り返した。ドナー層125に30mg/m²の安息香酸ナトリウム生理活性食塩水溶液を適用し、レシーバー層128は生理食塩水で満たし、実験中はスターラー124で攪拌した。経時的にサンプリングポート122を通して、レシーバー側溶液を採取し、その中に含まれる安息香酸ナトリウム濃度を、高速液体クロマトグラフィーを用いて測定し透過量を求めた。8時間まで透過実験を行い、その間の最大透過速度を求めた。なお、図中の121はレシーバー層を37℃の定温に保つためのジャケットで、入口126より温水が入り、出口127より温水がでる循環構造を有する。

(電場解析)

透過実験を行った各電極間距離、適用電圧条件下での皮膚の電場分布を市販のソフトウェア（ボルトST、株式会社フォトン製）を用いて調べた。各条件について得られた電場分布の最大値（電場強度の最大値）を求め、16段階に電場強度レベル分けした。電場強度の高い方から15段階目までの面積を求め、その面積の合計に占める各レベルの面積比を求めた。この手法により透過実験を行った全ての条件（計6）について解析した。なお、この電場解析は電圧を1回負荷したときのものである。

20 <比較例1>

比較例1として、実施例1と同様に透過実験を行った。但し、電圧は負荷しなかった。

<結果1>

上記の結果を表1に示す。

表 1

電極間距離 mm	負荷電圧 V	電場強度の 最大値 V/cm	電圧負荷面積 平均電場強度 V/cm	最大透過速度 $\mu\text{mol}/(\text{cm}^2 \cdot \text{h})$	その他
-	-	-	-	0.015	比較例 1
1	300	17534	2946	0.016	
5	300	1430	254.0	0.032	
10	300	940	39.91	0.025	
15	300	791	7.3006	0.019	
7.5	450	2838	545.7	0.035	
7.5	600	3784	726.4	0.060	

図 10 は、安息香酸ナトリウムの最大透過速度と電場強度の最大値の関係を示すグラフである。また、図 11 は、安息香酸ナトリウムの最大透過速度と電圧負荷面積平均電場強度の関係を示すグラフである。なお、図 10 の電場強度の最大値が 0、及び図 11 の電圧負荷面積平均電場強度が 0 の場合は、電圧を負荷しなかった比較例 1 を示している。上記結果より、1 回の電圧負荷により生じる電場強度の最大値が約 790 V/cm～約 4000 V/cm の範囲であれば、電圧を負荷しない比較例 1 に比べ、安息香酸ナトリウムの透過が促進されていることがわかった。一方、電場強度の最大値が約 4000 V/cm を越えると、安息香酸ナトリウムの透過量は電圧を負荷しないときと変わらない傾向にあった。また、1 回の電圧負荷により生じる電圧負荷面積平均電場強度が約 7～約 730 V/cm の範囲であれば、安息香酸ナトリウムの透過を促進することもわかった。

<実施例 2>

構造の異なる 3 種の電極（製剤）を用いた場合の電場解析を行い、どの電極が最も適しているかを予測し、構造の決定を行った。

(実験方法)

図 4 はリング型の陽極と針型の陰極（以下、リング型－針型と表す）

を皮膚に適用した例を示す斜視図であり、図5はその平面図である。図6は長方形の陽極および陰極の板型電極（板型－板型）を皮膚に適用した例を示す斜視図であり、図7はその平面図である。図8は針型の陽極および陰極（針型－針型）を皮膚に適用した例を示す斜視図であり、図5～9はその平面図である。各図において、41、61、81は皮膚、42、62、82は陰極電極、43、63、83は陽極電極を示す。実施例2では、これらを実施例1の試験と同様の試験に供した。なお、ドナー側に適用する薬物溶液はジクロフェナクナトリウム20mg/mlの水溶液を用い、電圧は200Vを1時間、1回負荷した。

10 <結果2>

上記3種類の電極（リング型－針型、板型－板型、針型－針型）はいずれも電極間距離は6mmであるので、従来のような一次元的な表現をすれば200V/0.6cm、すなわち300V/cmでどの電場でも吸収性は同等であることが予測される。しかし、本発明により二次元的に電場分布を解析した場合は、リング型－針型が242.4V/cm、板型－板型が324.9V/cm、針型－針型が161.2V/cmと、板型－板型が最も高い電圧負荷面積平均電場強度を有していた。実施例1でも実証したように、電圧負荷面積平均電場強度が約7V/cm～約730V/cmの範囲であれば、電圧負荷面積平均電場強度の増加に伴い薬物の透過量も増加することより、上記3つの電極では、板型－板型が最も効率よくジクロフェナクナトリウムを透過することが予想される。図13は、電圧負荷面積平均電場強度とジクロフェナクナトリウムの7時間目までの累積透過量の関係を示すグラフである。このグラフから明らかのように、電場分布の解析の結果通りに、電圧負荷面積平均電場強度の高かった板型－板型の電極を用いた場合が最も透過量が多かった。この実施例では、構造の異なる電極で同じ電圧を負荷した場合を示し

たが、例えば、構造の異なる電極で異なる電圧を負荷した時に、どちらが高い透過量を得られるかを予想することも可能である。すなわち、電極の構造のみならず、出力電圧の設定等にも有効である。このように、
5 経皮絆粘膜へのエレクトロポレーションの適用において二次元的に電気
力線を用いた解析、または、二次元的に電場強度の分布を解析、予想し、
エレクトロポレーション用装置及び電極構造を設計することは非常に有用である。

＜実施例 3＞（電場解析により設計、構造決定した電極）

実施例 2 で行った電場解析の結果を図 14～図 16 に示す。ここで、
10 図 14 はコンピュータソフトウェアにより解析したリング型－針型電極
の場合の電場分布を示す図、図 15 は同じく板型－板型電極の場合の電
場分布を示す図、図 16 は同じく針型－針型電極の場合の電場分布を示
す図である。最も透過性がよかった板型－板型では、陽極と陰極の電極
構造が同じ形状を有すること、および、陽極と陰極間の距離が一定であ
15 ることにより、皮膚全体に電場がかかり、比較的均等に高い電場が負荷
され、高い透過性が得られている。このように電極間及び電圧の負荷さ
れる面の電場強度がほぼ均一になるように設計された電極及び装置は有
効である。

また、電場解析の結果、電極の真下には電場が負荷されずに、電極の
20 近傍において電場が最も高く、薬物の吸収性がよいことがわかった。そ
こで、上記の構造上の特徴と電場分布の特徴より、より吸収性が高い電
極の構造は、電極の面積は小さく、電極の縁の長さが長いものが好まし
い条件であることが予想される。図 17～図 19 に条件にあう電極の形
状を示した。

25 図 17 は板型－板型の電極を改良したものであり、電極自身の面積は
三角形に切り込まれているため小さくなり、さらに縁（両電極の対向面）

は鋸のような凹凸形状を有しているため板型に比べ周囲長が長くなっています。しかも陰極と陽極の電極間距離はどこをとっても同じである。また、図18は同心円状に広がる電極を示すもので、陽極と陰極が互い違いに並んでおり、この間でほぼ均一に電場がかかる。さらに、これに改良を加えたものが図19である。この電極は、図19で破線部分を拡大して示すように、電極の縁に三角形に切り込みを設け、電極全体の周囲長を長くしたものである。この切り込み（凹凸形状）は縁全体に設けても良いし、一部にのみ設けてもよい。なお、上記構造は、あくまでも例示でありこれに限定されるものではない。

10 <実施例4>

安息香酸ナトリウムの透過を調べ、透過量と皮膚に負荷される電場との関係を調べた。

(透過実験)

図20は、インピトロ透過実験装置および電極の設置状況を示す図である。この図において、201は銀で作製した針型電極（陽極）、202は薬液（30mg/mlの安息香酸ナトリウム水溶液）、203は銀で作製したリング型電極（陰極、電極43と同じ形状）、204は皮膚（ヘアレスラット摘出皮膚）、205はレシーバー側溶液（生理食塩水）、206はレシーバー側溶液を採取するサンプリングポート、207はレシーバー側溶液を攪拌するためのスターラー、208はレシーバー層を37℃の定温に保つためのジャケットで、入口209より温水が入り、出口210より温水がでる循環構造を有する。この装置では、陰極203は皮膚に接するが、陽極201は皮膚と接触しない。陽極201の下端から皮膚204までの距離は5mmである。

25 電極間にジーンーパルサー（バイオラッド）を用いて、エレクトロポレーションを1分間に1回、2時間に渡って500Vを負荷し、経時的

にサンプリングポート 206 からレシーバー側溶液 205 を採取し、その中に含まれる安息香酸ナトリウムを HPLC にて定量し、透過量を求めた。

(電場解析)

5 上記透過実験の条件（負荷電圧、陽極および陰極の位置や距離、皮膚の位置）を前述の市販のコンピュータソフトウェアに入力し、電場分布を求めた。実施例 1 では、陽極、陰極および皮膚が同一平面上にあるので、皮膚表面の電場を二次元的に求めたが、ここでは陽極、陰極および皮膚が同一平面上に位置していないので、三次元の解析により電場の分布を求めた。その結果を図 21 に示す。さらに、この三次元で求めた電場分布は皮膚面と水平な任意の面、即ち図 21 で示す XY 面について二次元的に電場分布を求めることができる。そこで、図 21 の XY 最下面（皮膚表面）の二次元的な電場分布を求めた。その結果を図 22 に示す。この皮膚表面の電場分布を用いて、実施例 1 と同様に電場解析を行い、
10 15 電圧負荷面積平均電場を求めた。

<比較例 2>

実施例 4 とほぼ同様の装置を用いて、同様の実験を行い、透過量を求めた。ただし、電圧は負荷していない。

<結果 3>

20 比較例 2 では 8 時間までに $5.01 \mu\text{mol}/\text{cm}^2$ の安息香酸ナトリウムが透過したが、電圧を負荷しない比較例 2 では $3.12 \mu\text{mol}/\text{cm}^2$ が透過したに過ぎなかった。これよりエレクトロポレーションにより薬物の透過が促進されたことが確認された。

一方、実施例 4 で求めた電圧負荷面積平均電場強度は $357.16 \text{ V}/\text{cm}$
25 であり、上述の約 $7 \text{ V}/\text{cm}$ ～約 $730 \text{ V}/\text{cm}$ の範囲に含まれている。

即ち、本実施例のように、陽極、陰極および皮膚が同一平面上になくても、三次元的に電場分布を調べ、さらに皮膚表面（または粘膜）にかかる電場分布を二次元的に解析し、その電圧負荷面積平均電場強度が上記範囲にあれば、エレクトロポレーションの効果が得られ、薬物の透過
5 は促進される。

産業上の利用可能性

本発明は、上記のようにエレクトロポレーション用装置及び電極において、電場強度の最大値及び／または電圧負荷面積平均電場強度を規定
10 し、しかも電極の構造等を規定することにより、より薬物の透過性向上させることができる。

さらに、電場分布を二次元的または三次元的に解析することにより、負荷した電圧を有効に利用できるエレクトロポレーション用装置及び電極の提供が可能となる。

請求の範囲

1. 皮膚または粘膜にエレクトロポレーションを適用するためのエレクトロポレーション用装置であって、エレクトロポレーションの1回の適用毎に、適用面に生じる電場強度の最大値が約790V/cm～約4000V/cmとなるように設定されることを特徴とするエレクトロポレーション用装置。
2. 皮膚または粘膜にエレクトロポレーションを適用するためのエレクトロポレーション用装置であって、エレクトロポレーションの1回の適用毎に、適用面に生じる電圧負荷面積平均電場強度が約7V/cm～約730V/cmとなるように設定されることを特徴とするエレクトロポレーション用装置。
3. 皮膚または粘膜にエレクトロポレーションを適用するための陽極および陰極を有するエレクトロポレーション用装置において、陽極と陰極の電極間に生じる電場強度がほぼ均一となるように構成されることを特徴とするエレクトロポレーション用装置。
4. 皮膚または粘膜にエレクトロポレーションを適用するための陽極および陰極を有するエレクトロポレーション用装置であって、陽極と陰極間の距離および負荷電圧の少なくとも一方を調節することにより、エレクトロポレーションの1回の適用で、適用面に生じる電場強度の最大値が約790V/cm～約4000V/cm、及び／または電圧負荷面積平均電場強度が約7V/cm～約730V/cmとなるように設定されることを特徴とするエレクトロポレーション用装置。
5. 陽極および陰極のうち一方が適用面から離れて配置されることを特徴とする請求の範囲第4項記載のエレクトロポレーション用装置。
6. 陽極および陰極を有するエレクトロポレーション用装置において、

陽極および陰極の電極構造が同じ形状を有し、かつ陽極と陰極間の距離がほぼ一定であることを特徴とするエレクトロポレーション用装置。

7. 陽極および陰極の電極構造が板型であることを特徴とする請求の範囲第6項記載のエレクトロポレーション用装置。

5 8. 陽極および陰極の電極構造が同心円状のリング型であることを特徴とする請求の範囲第6項記載のエレクトロポレーション用装置。

9. 陽極と陰極の対向面が互いに凹凸形状を有することを特徴とする請求の範囲第6項～第8項のいずれかに記載のエレクトロポレーション用装置。

10 10. 陽極および陰極からなるエレクトロポレーション用電極であって、陽極および陰極の電極構造が同じ形状を有し、かつ陽極と陰極間の距離がほぼ一定であることを特徴とするエレクトロポレーション用電極。

11. 陽極および陰極の電極構造が板型であることを特徴とする請求の範囲第10項記載のエレクトロポレーション用電極。

15 12. 陽極および陰極の電極構造が同心円状のリング型であることを特徴とする請求の範囲第10項記載のエレクトロポレーション用電極。

13. 陽極と陰極の対向面が互いに凹凸形状を有することを特徴とする請求の範囲第10項～第12項のいずれかに記載のエレクトロポレーション用電極。

1 / 1 1

図 1

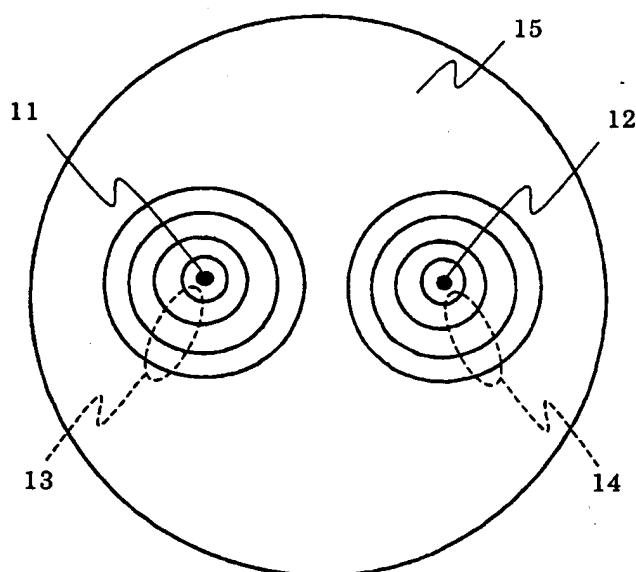


図 2

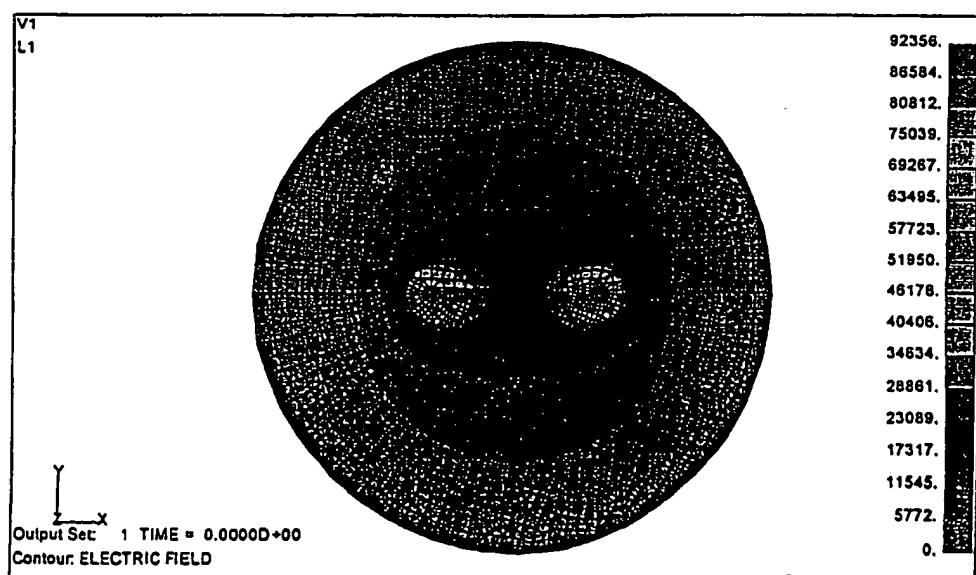


図 3

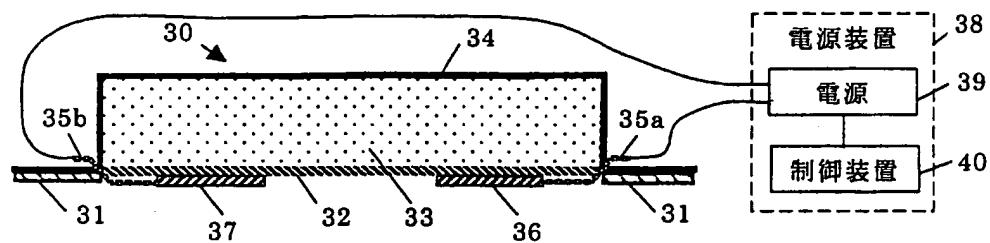


図 4

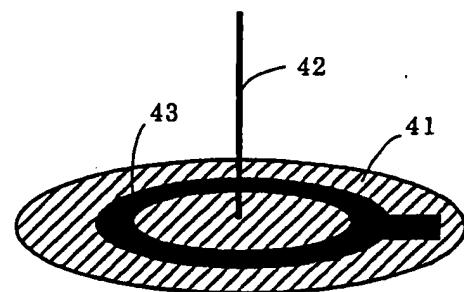


図 5

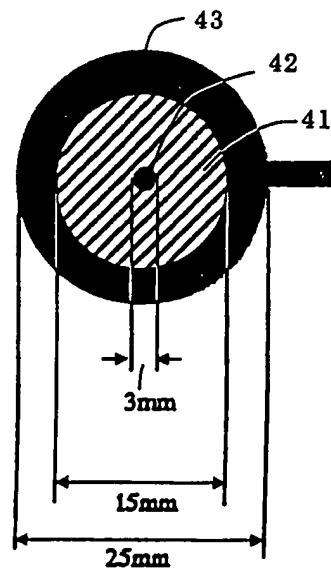


図 6

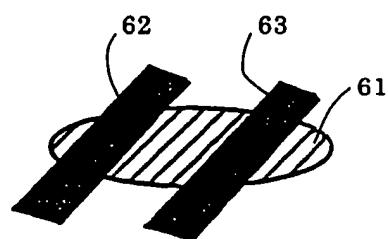
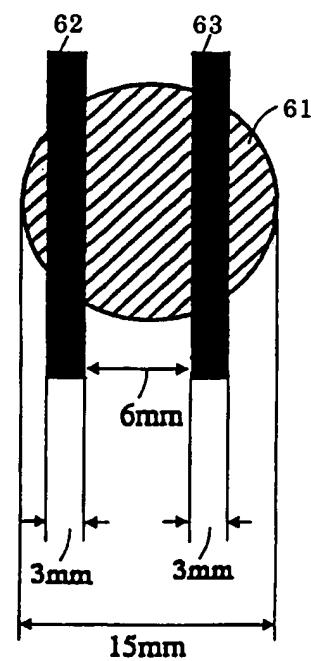


図 7



4 / 1 1

図 8

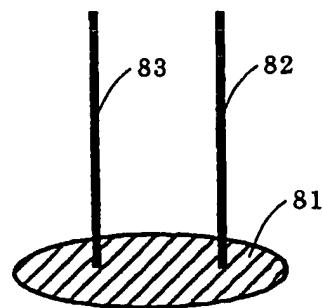
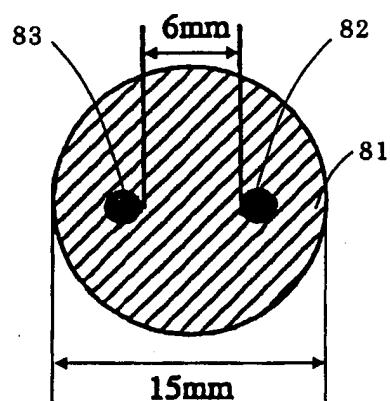


図 9



5 / 1 1

図 1 0

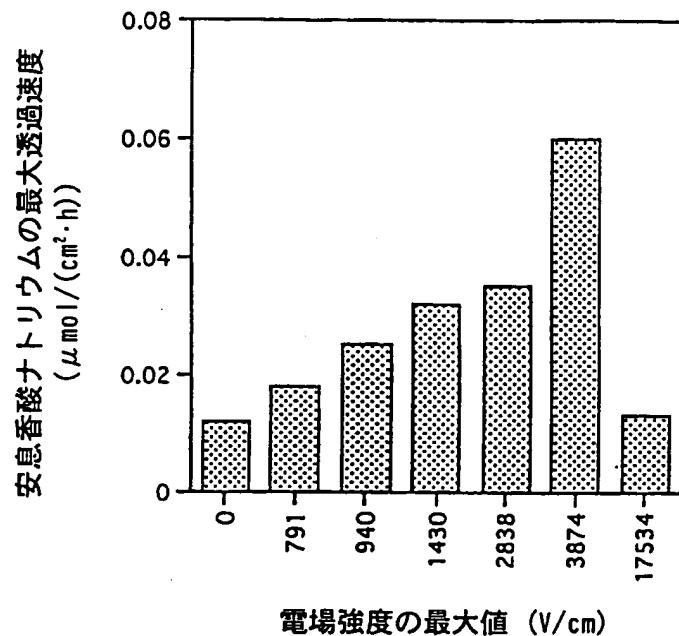


図 1 1

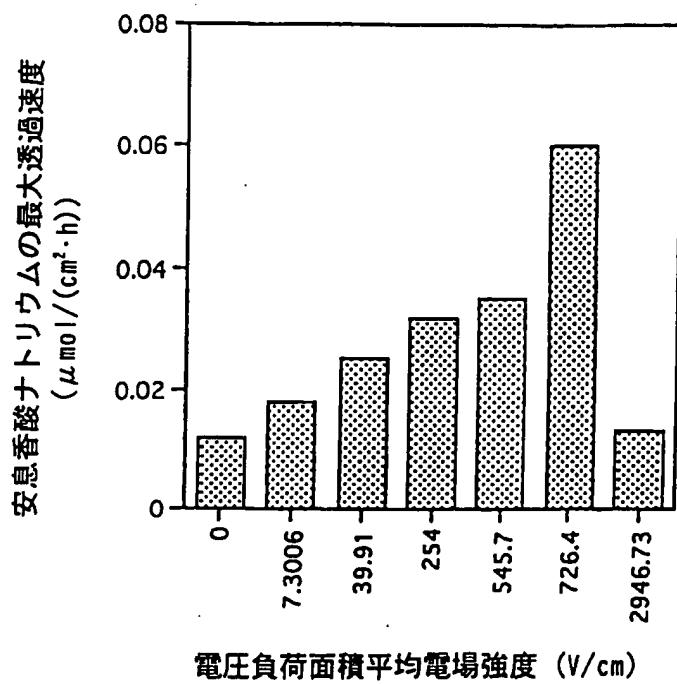


図 1 2

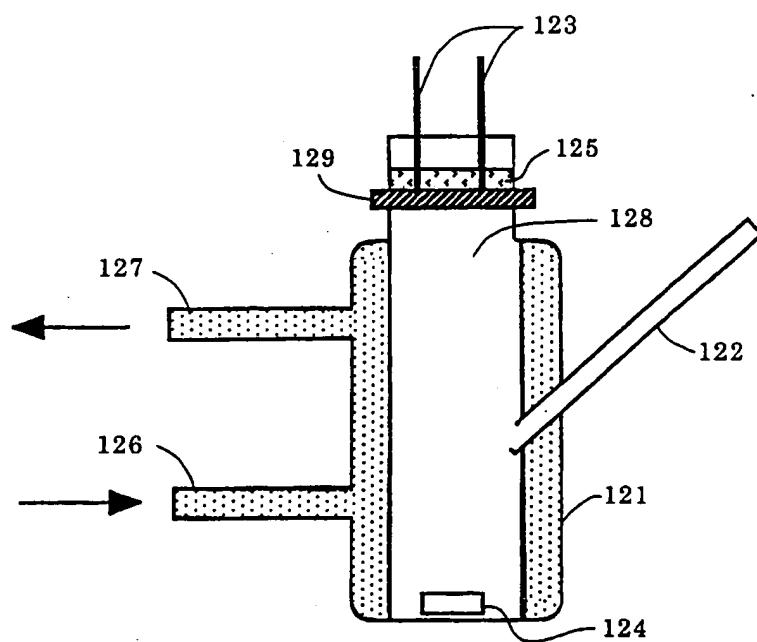
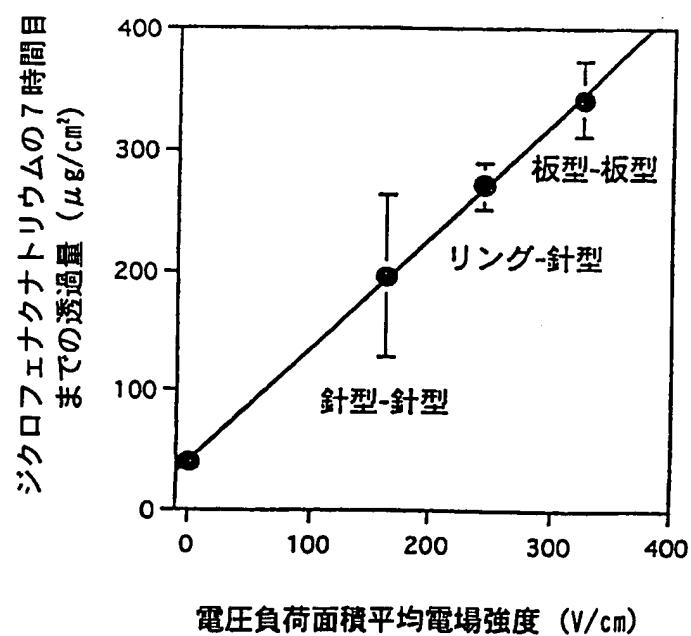


図 1 3



7 / 1 1

図 1 4

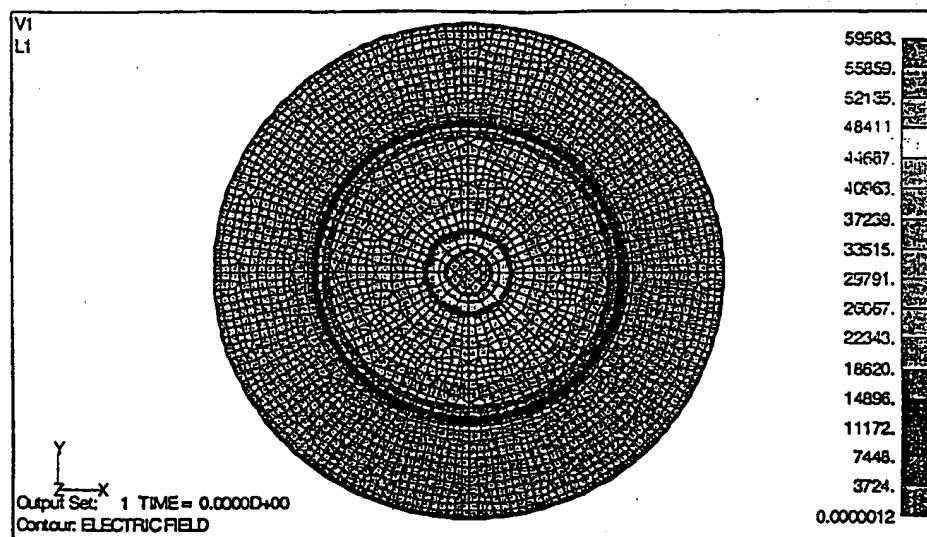
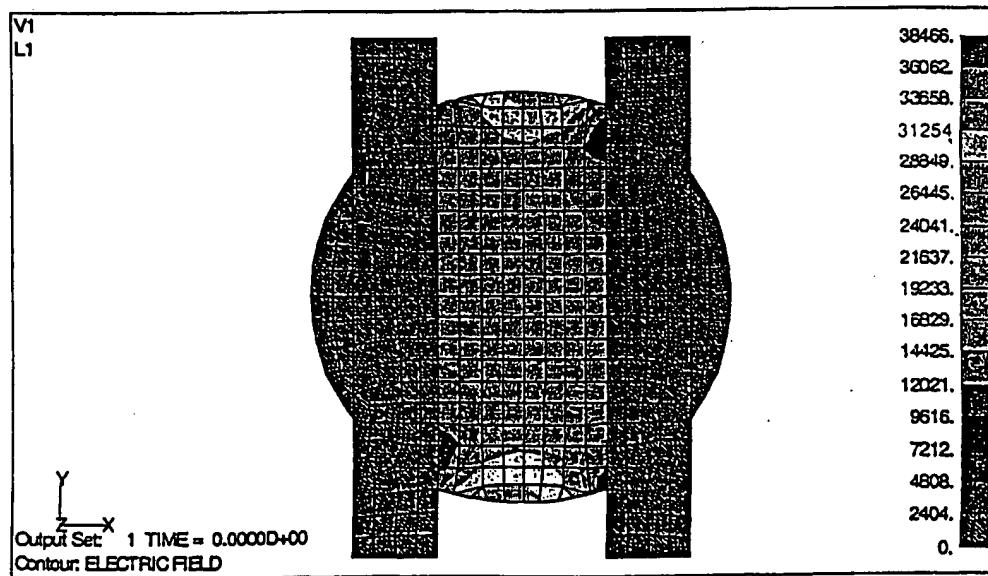


図 1 5



8 / 1 1

図 1 6

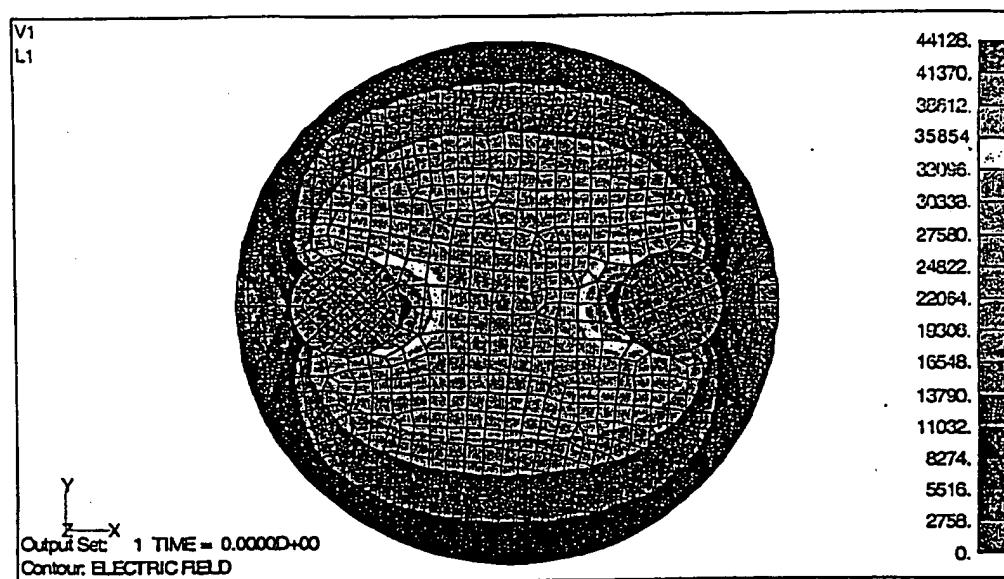
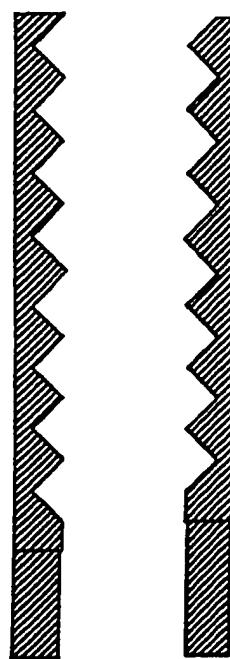


図 1 7



9 / 1 1

図 1 8

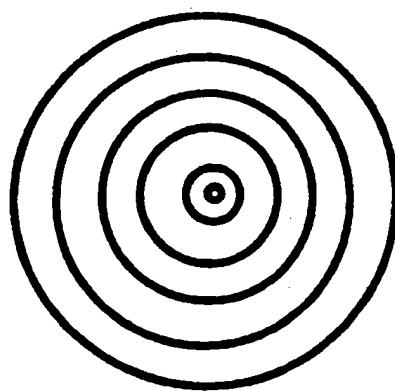


図 1 9

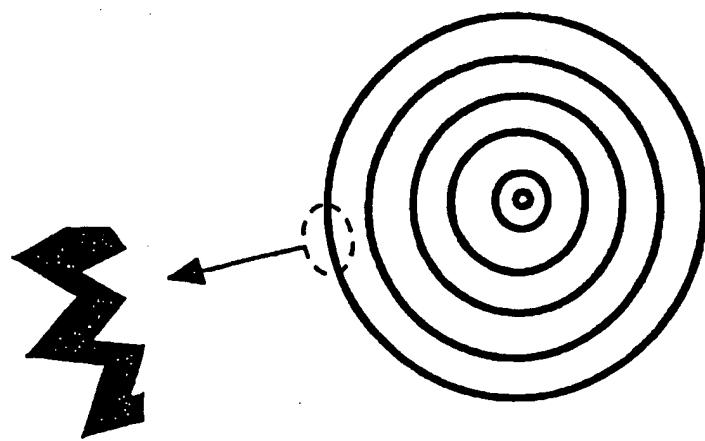
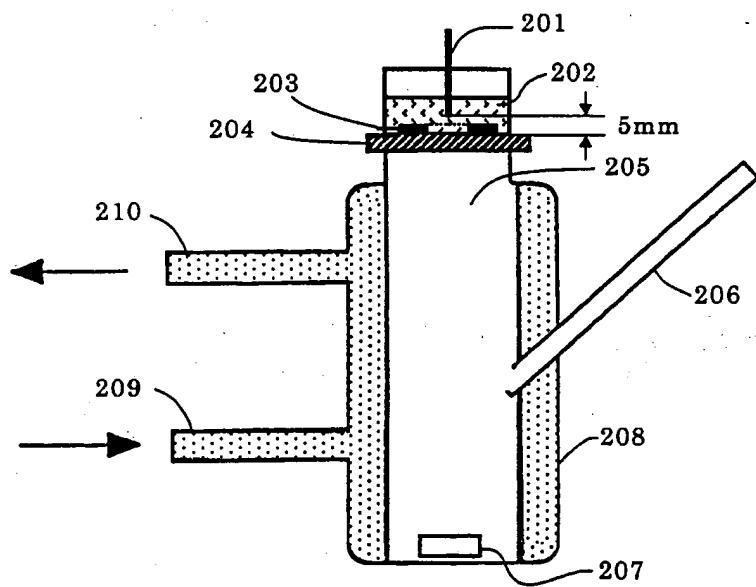


図 20



11 / 11

図 2 1

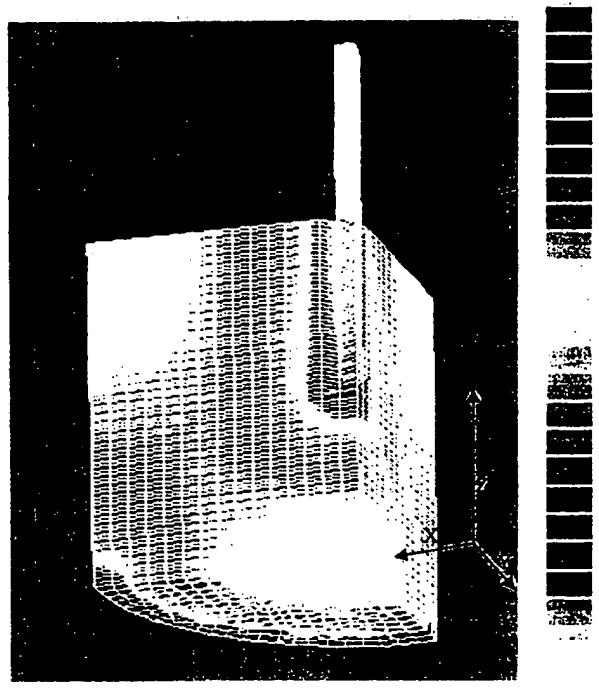
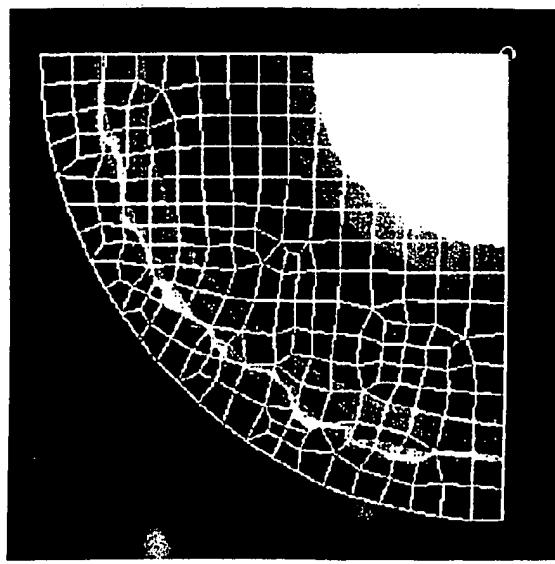


図 2 2



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP00/07188

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
Int.Cl⁷ A61N1/30

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
Int.Cl⁷ A61N1/30, C12N13/00Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched
Jitsuyo Shinan Koho 1926-1996 Toroku Jitsuyo Shinan Koho 1994-2001
Kokai Jitsuyo Shinan Koho 1971-2001 Jitsuyo Shinan Toroku Koho 1996-2001

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	US, 5674267, A (Centre National de la Recherche Scientifique), 07 October, 1997 (07.10.97), Columns 5 to 6; Figs. 5 to 7, & FR, 2703253, A1 & WO, 94/022526, A1 & EP, 693951, A	1,3
Y	JP, 10-234366, A (Hisamitsu Pharmaceutical Co., Inc.), 08 September, 1998 (08.09.98), Par. No.[0010]; Figs. 1 to 9 (Family: none)	1,3,6,10
X	US, 5128257, A (Bradford W. Baer), 07 July, 1992 (07.07.92), Column 7; Figs. 1 to 14 (Family: none)	6-9,10-13

 Further documents are listed in the continuation of Box C. See patent family annex.

* Special categories of cited documents:	"T"	later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"X"	document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"E" earlier document but published on or after the international filing date	"Y"	document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"&"	document member of the same patent family
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means		
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed		

Date of the actual completion of the international search
05 January, 2001 (05.01.01)Date of mailing of the international search report
16 January, 2001 (16.01.01)Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No:

国際調査報告

国際出願番号 PCT/JPOO/07188

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))
Int. C1' A61N1/30

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))
Int. C1' A61N1/30, C12N13/00

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報 1926-1996年
日本国公開実用新案公報 1971-2001年
日本国登録実用新案公報 1994-2001年
日本国実用新案登録公報 1996-2001年

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
Y	U.S., 5674267, A (Centre National de la Recherche Scientifique), 7. 10月. 1997 (07. 10. 97), 第5-6欄, 第5-7図 FR, 2703253, A1 & WO, 94/022526, A1 & EP, 693951, A	1, 3
Y	J.P., 10-234366, A (久光製薬株式会社), 8. 9月. 1998 (08. 09. 98), 段落番号【0010】，第1-9図 (ファミリーなし)	1. 3. 6. 10

 C欄の続きにも文献が列挙されている。 パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
 「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの
 「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)
 「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
 「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの
 「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの
 「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの
 「&」同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日
05. 01. 01

国際調査報告の発送日
16.01.01

国際調査機関の名称及びあて先
日本国特許庁 (ISA/JP)
郵便番号 100-8915
東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)
芦原 康裕



3 E 9140

電話番号 03-3581-1101 内線 3345

C(続き) 関連すると認められる文献		関連する 請求の範囲の番号
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	
X	U.S. 5128257, A (Bradford W. Baer), 7. 7月. 1992 (07. 07. 92), 第7欄, 第1-14図 (ファミリーなし)	6-9, 10-13